

## NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN QUẦN THỂ CÂY MĂNG CẦU DAI (*Annona squamosa*) TẠI TỈNH TÂY NINH VÀ BÀ RỊA – VŨNG TÀU DỰA TRÊN CHỈ THỊ SINH HỌC PHÂN TỬ

Mai Quỳnh Trang<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

*Mục tiêu của nghiên cứu nhằm xác định mối liên hệ di truyền quần thể cây măng cầu dai (Annona squamosa) để ứng dụng trong công tác chọn tạo giống phục vụ cho sản xuất nông nghiệp, góp phần nâng cao sản xuất cây trồng. Kết quả phân tích đa dạng di truyền dựa trên chỉ thị sinh học phân tử SSR từ 10 quần thể măng cầu dai thu thập tại hai tỉnh Tây Ninh và Bà Rịa – Vũng Tàu thu được đa hình cao, trong đó mỗi LMCH 33 và LMCH 122 cho số băng khuếch đại đa hình cao nhất. Cây phân nhóm mối quan hệ phát sinh loài cho thấy các giống măng cầu dai chia thành bốn nhóm chính: nhóm I chỉ có quần thể: BR-VT7; nhóm II gồm các quần thể: BR-VT8, BR-VT9, BR-VT10, nhóm III gồm các quần thể: TN6, TN2, TN4, TN5 và nhóm IV gồm 2 quần thể: TN1, TN3. Phân tích phần mềm popgene 1.32 cho kết quả hệ số khoảng cách di truyền dao động từ 0,24 đến 1,43, tương ứng với hai quần thể măng cầu dai có khoảng cách di truyền xa nhất là BR-VT7 và TN1, gần nhất là TN3 và TN2. Kết quả phân tích còn cho thấy mỗi LMCH 122 cho chỉ số PIC (0,79) và chỉ số I (1,60) cao nhất và được xem là chỉ thị sinh học phân tử đặc trưng trong phân tích đa dạng di truyền cây măng cầu dai.*

**Từ khóa:** Đa dạng di truyền, măng cầu dai, chỉ thị sinh học phân tử

### 1. Giới thiệu

Cây măng cầu dai (*Annona squamosa*) hay còn gọi là cây măng cầu ta, cây na, cây na dai. Cây măng cầu dai có nguồn gốc ở vùng Caribê và Nam Mỹ, nó rất được ưa thích và được trồng nhiều nhất ở đây (chưa kể những cây mọc nửa dại) như ở các nước México, Brasil, Cuba [1]. Mặc dù cây măng cầu dai được con người thuần hóa từ rất sớm và được du nhập vào các nước nhiệt đới, cận nhiệt đới nhưng do đặc tính trái phức hợp, thường to, nhiều nước, khó vận chuyển nên hiện nay măng cầu dai thuộc loại trái cây chưa được khai thác hết tiềm năng [2]. Ngày nay, cây măng cầu dai được trồng phổ biến trên thế giới, song quy mô lớn tập

trung chủ yếu ở châu Á: Ấn Độ, Thái Lan, Trung Quốc. Ở Việt Nam, vùng phân bố cây măng cầu dai khá rộng, trừ những nơi có mùa đông lạnh và sương muối không trồng được còn hầu hết các tỉnh đều có [3]. Do nhận thấy hiệu quả cây măng cầu dai mang lại là rất cao nên nhiều nơi đã mở rộng diện tích trồng măng cầu dai và coi đây là hướng phát triển cây ăn quả chủ lực. Bên cạnh đó, măng cầu dai cũng góp phần đáng kể vào việc chuyển đổi cơ cấu cây trồng, làm tăng giá trị sử dụng ruộng đất giúp tăng thêm thu nhập, góp phần xóa đói giảm nghèo cho người dân, đặc biệt ở hai tỉnh Tây Ninh và Bà Rịa – Vũng Tàu, phủ xanh đất trống đồi núi trọc, cải thiện môi trường sinh thái.

<sup>1</sup>Trường Đại học Đồng Nai  
Email: trangmaiquynh86@gmail.com

Tuy nhiên, hiện nay tình hình trồng măng cầu dai ở Việt Nam đang gặp phải một số hạn chế cần khắc phục, trong đó, thông tin về tài nguyên di truyền cây măng cầu dai ở nước ta còn giới hạn, do đó việc xác định đa dạng di truyền các giống măng cầu dai có ý nghĩa cho các chương trình nghiên cứu và quản lý nguồn gen đối với cây măng cầu dai. Để nghiên cứu đa dạng di truyền có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau, trong đó chỉ thị sinh học phân tử SSR (Simple Sequence Repeat) có tiềm năng xác định đa hình dựa vào sự khác biệt của sản phẩm DNA được khuếch đại và có thể sử dụng ở bất cứ giai đoạn phát triển nào của cây trồng. Chỉ thị SSR bao gồm các trình tự lặp lại ngắn và ngẫu nhiên từ 2-6bp và kích thước tại mỗi locus là 20-100bp [4], có tính đa hình rất cao. Vị trí của chỉ thị SSR trên nhiễm sắc thể có thể được xác định bằng phương pháp PCR từ một lượng

DNA rất nhỏ. Ngoài ra, chỉ thị SSR còn được xem là một công cụ đắc lực để giải quyết các vấn đề như định danh, phát hiện những cây bị mất lai lịch và đánh giá mức độ đa dạng di truyền của cây. Do đó, từ kết quả của nghiên cứu này có thể đánh giá, xác định mối liên hệ di truyền quần thể của cây măng cầu dai tại 2 tỉnh Tây Ninh và Bà Rịa – Vũng Tàu để góp phần vào việc nhận diện giống và tìm ra những chỉ thị liên kết với các tính trạng tốt của giống, từ đó làm cơ sở khoa học góp phần nâng cao phẩm chất và năng suất cây trồng.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng

Mẫu măng cầu dai được lấy tại 10 quần thể tại 2 tỉnh Tây Ninh và Bà Rịa – Vũng Tàu, mỗi quần thể 5 cây. Xác định vị trí cụ thể của cây lấy mẫu trên bản đồ thông qua hệ thống định vị toàn cầu GPS (Global Position System).

**Bảng 1:** Danh sách mẫu thu thập ở hai tỉnh Tây Ninh và Bà Rịa – Vũng Tàu

STT	Tên mẫu	Địa chỉ thu thập mẫu	Vị trí GPS
1	TN 1	Ninh Trung, Ninh Sơn, Tp.Tây Ninh	11.21.34 B 106.07.48 N
2	TN 2	Ninh Tân, Ninh Sơn, Tp.Tây Ninh	11.21.33 B 106.07.57 N
3	TN 3	Thạnh Lợi, Thạnh Tân, Tp.Tây Ninh	11.25.16 B 106.08.48 N
4	TN 4	Thạnh Hiệp, Thạnh Tân, Tp.Tây Ninh	11.25.08 B 106.08.57 N
5	TN 5	Ninh Phước, Ninh Thạnh, Tp.Tây Ninh	11.20.27 B 106.08.31 N
6	TN 6	Ninh Hòa, Ninh Thạnh, Tp.Tây Ninh	11.20.25 B 106.08.54 N
7	BR-VT 7	Châu Pha, Tân Thành, Bà Rịa – Vũng Tàu	10.33.11 B 107.08.20 N
8	BR-VT 8	Tóc Tiên, Tân Thành, Bà Rịa – Vũng Tàu	10.34.49 B 107.07.17 N
9	BR-VT 9	Long Mỹ, Đất Đỏ, Bà Rịa – Vũng Tàu	10.26.31 B 107.15.52 N
10	BR-VT 10	Láng Đài, Đất Đỏ, Bà Rịa – Vũng Tàu	10.30.05 B 107.22.06 N

*Ghi chú:* TN, BR-VT: Mẫu quần thể được lấy tại Tây Ninh, Bà Rịa – Vũng Tàu.

1,2,...,9,10: Số thứ tự các mẫu quần thể.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Phương pháp lấy mẫu cây

Lấy mẫu lá non (đọt lá vừa mới nhú) của 5 cây trên mỗi quần thể măng cầu dai. Mỗi cây lấy 10 lá. Các mẫu lá được lấy tại vườn, cho vào túi nylon, đánh dấu mẫu và đưa về trữ trong tủ -20°C để tiến hành ly trích DNA.

### 2.2.2. Phương pháp ly trích DNA tổng số

Cân 0,2g lá đã rửa sạch. Cho 500µl dịch ly trích vào eppendorf 1.5, nghiền lá với dung dịch này. Thành phần dịch trích gồm: SDS (sodium dodecyl sulfate) 1%; 0,1M NaCl; 50mM EDTA; 100mM Tris-HCl. Thêm 500µl Phenol: Chloroform : Isoamyl alcohol với tỷ lệ 25:24:1, lắc nhẹ, đều, ly tâm 5 phút 9000 vòng/phút. Chuyển lấy dịch nổi ở trên cùng, lặp lại bước 2. Chuyển lấy dịch nổi, thêm thể tích Chloroform bằng đúng thể tích dịch nổi vừa hút, lắc nhẹ, ly tâm 5 phút 9000 vòng/phút ở 4°C. Chuyển lấy dịch nổi, thêm ethanol 99,5% vào. Thể tích Ethanol thêm vào gấp đôi thể tích dịch nổi thu được. Để tủa ở -20°C khoảng 30 phút. Ly tâm 10 phút, 9000 vòng/phút ở 4°C. Đổ bỏ dịch

trong. Rửa cặn với 500µl Ethanol 70% bằng cách ly tâm 2 phút 9000 vòng/phút ở 4°C, đổ bỏ dịch trong. Lặp lại bước 7. Để khô cặn tự nhiên, hòa tan cặn trong 30µl TE 1X, để cặn tan ở nhiệt độ phòng. Bảo quản mẫu ở -20°C.

### 2.2.3. Phương pháp điện di định tính DNA

Pha gel agarose với nồng độ 1%: Cân 0,6g agarose cho vào 60ml dung dịch TBE 0,5X, sau đó cho hỗn hợp trên vào lò Viba khoảng 2 phút. Để nguội sau đó đổ gel vào khay (đặt lược tạo giếng trước khi đổ gel), chú ý tránh tạo bọt khí trong quá trình đổ gel. Để gel đông đặc lại ở nhiệt độ phòng. Rút lược ra khỏi gel, cho gel vào bồn điện di chứa dung dịch TBE 0,5X. Load mẫu vào các giếng với tỷ lệ 1µl loading dye và 5µl DNA mẫu. Chạy điện di ở điều kiện 80V, 400mA, thời gian khoảng 15-20 phút. Tiếp theo, nhuộm Ethidium bromide khoảng 15 phút, sau đó đưa vào bật UV và chụp hình lại.

### 2.2.4. Thực hiện phản ứng PCR-SSR

Để phản ứng SSR cho phản ứng tối ưu nhất thì cần có sự tương thích giữa các thành phần hóa chất trong phản ứng.

**Bảng 2:** Thành phần hóa chất cho phản ứng SSR

Hóa chất	Nồng độ gốc	Thể tích sử dụng (µl)	Nồng độ phản ứng
Master mix	5X	12,5	1X
Mồi	100µM	2 (1F + 1R)	10µM
DNA		1	
Nước cất		9,5	
<b>Tổng</b>		<b>25</b>	

Bên cạnh đó, quá trình tối ưu hóa quy trình SSR cho thấy các mồi bắt cặp

ở nhiệt độ 51°C là phù hợp nhất. Lựa chọn tất cả 20 mồi chạy PCR trong đó

10 môi cho kết quả PCR tốt nhất cho đa bị đứt gãy.  
hình cao với các băng sáng, rõ, không

**Bảng 3:** Các môi SSR được sàng lọc và sử dụng trong phân tích đa hình trên cây măng cầu dai

STT	Tên môi	Trình tự môi
1	LMCH 33	F: AAGAAATGGGAGTAAATAGTG R: ACGGTTGTGAATAGTTGAGT
2	LMCH 34	F: ATTTGACGGTGTTAAGGTGGT R: TATGTAGGAAATGACCAGGCTA
3	LMCH 43	F: CTAGTTCCAAGACGTGAGAGAT R: ATAGGAATAAGGGACTGTTGAG
4	LMCH 69	F: AGCTTTAGCCATGAATTAGA R: GAAAGGCTGACGAGATATAA
5	LMCH 93	F: GTTGACCTTGTTCTCGATCC R: CTCCCTCATGTTTTGCTTTT
6	LMCH 102	F: GCTAACCATCCATTTACATA R: ATAACATTCTTTATCACCATCT
7	LMCH 108	F: TTAGCCTCAGCCATTACTTA R: ACTCTTCAAACGATGAAAAC
8	LMCH 119	F: CAGAAAATTAGCAGAGGACTCA R: GTGGGTTGGGTTTTTAGGTC
9	LMCH 122	F: AGCAAAGATAAAGAGAAGATAA R: ATCCAAGCCTATTAACAAC
10	LMCH 128	F: CTTGTAAAATGGCTGTTACT R: GCATTGAGCTGACATAACTC

(Nguồn: *Escribano và cộng sự, 2008 [5]*)

#### 2.2.5. Điện di sản phẩm PCR

Điện di kiểm tra sản phẩm PCR bằng cách đổ gel agarose nồng độ 2%. Đun agarose trong trong lò viba 500W cho đến khi agarose tan đều (khoảng 2 phút). Để nguội ở nhiệt độ phòng. Hút 5µl mẫu PCR với 1µl loading dye, trộn đều, điện di ở 80V, 400mA trong 25-30 phút. Sau đó đem nhuộm ethium bromide từ 10-15 phút.

#### 2.2.6. Xử lý số liệu

Các phân đoạn DNA có kích thước khác nhau được ghi nhận bằng cách mã hóa thành các ký tự A, B, C, ..., sau đó nếu xuất hiện băng trong sản phẩm điện di thì ký hiệu là 1, không xuất

hiện thì ký hiệu là 0. Dữ liệu này sẽ được xử lý và phân tích trong chương trình NTSYSpc 2.1 (Numerical Taxonomy System) để tìm ra mối tương quan giữa các đối tượng nghiên cứu thông qua hệ số tương đồng di truyền và biểu đồ hình cây.

Số liệu này được sử dụng để xây dựng ma trận tương đồng (Similarity matrix) hoặc ma trận khoảng cách (Distance matrix). Các ma trận này biểu hiện cho mối quan hệ xa gần về mặt di truyền giữa các mẫu phân tích và được xây dựng trên công thức toán học của Nei và Li (1979).

$$S_{xy} = 2xy/x+y$$

Xy: số băng DNA giữa 2 mẫu

X: số băng DNA của mẫu x

Y: số băng DNA của mẫu y

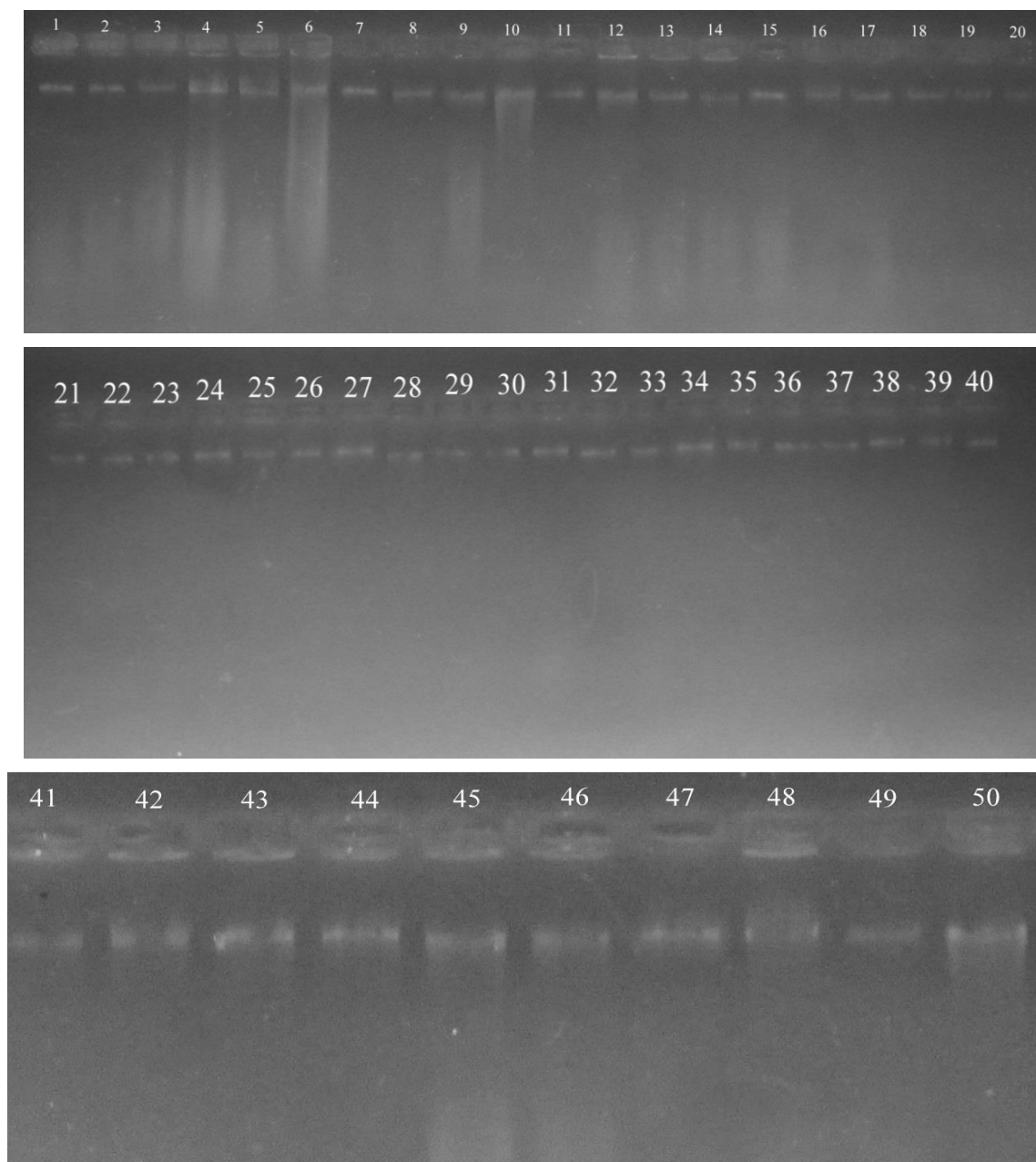
Sxy: hệ số tương đồng giữa 2 mẫu

Từ Sxy ta tính được khoảng cách di truyền giữa x và y,  $D_{xy} = 1 - S_{xy}$

Phân tích khoảng cách di truyền và các tham số của Nei (1987) sử dụng tần số gen bằng phần mềm Popgene 1.32.

### 3. Kết quả và thảo luận

#### 3.1. Kết quả ly trích DNA tổng số



*Ghi chú:* 1, 2, 3, ..., 49, 50 : thứ tự các mẫu măng cầu dai điện di DNA tổng số

**Hình 1:** Kết quả điện di DNA tổng số

Ảnh điện di DNA tổng số của các giống măng cầu dai cho thấy chất lượng DNA sau tách chiết tốt, nồng độ cao, đủ tiêu chuẩn sử dụng cho phản ứng PCR.

### 3.2. Kết quả phản ứng PCR của 10 môi SSR

Kết quả đa hình từ 10 môi SSR sử dụng trong nghiên cứu cho thấy tất cả các môi đều cho sản phẩm khuếch đại

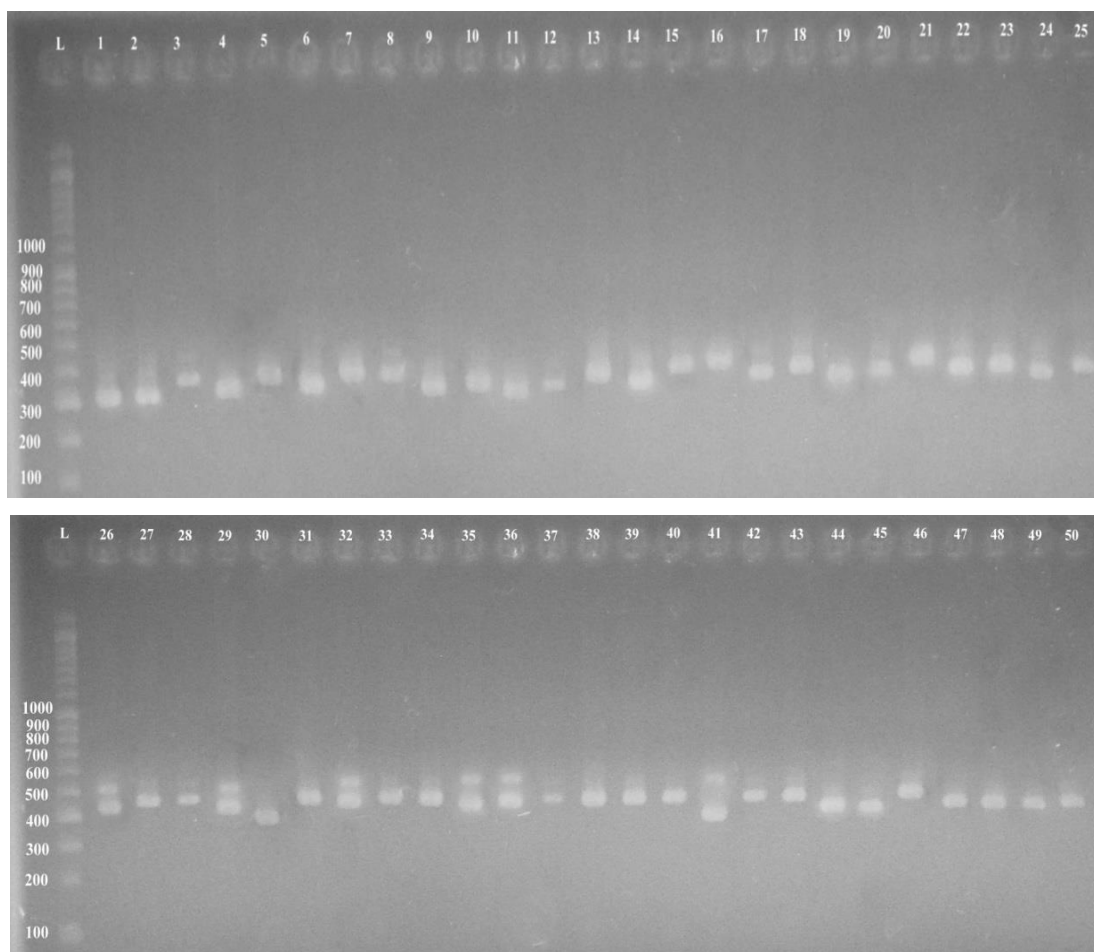
tốt trên 10 quần thể măng cầu dai và sản phẩm khuếch đại thu được đều là các băng đa hình, với khoảng cách từ 4-7 allele/locus, trung bình 5,4 allele/locus. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Escribano và cộng sự (2008): số băng đa hình được tạo ra với khoảng cách từ 3-7 allele/locus, trung bình 5,25 allele/locus [5].

**Bảng 4:** Sản phẩm khuếch đại của 10 môi SSR

Môi	Số băng khuếch đại ( $N_a$ )	Số băng đa hình	Kích thước băng (bp)
LMCH 33	7	7	320-550
LMCH 34	5	5	380-480
LMCH 43	4	4	350-450
LMCH 69	5	5	250-400
LMCH 93	5	5	400-550
LMCH 102	5	5	250-400
LMCH 108	5	5	250-400
LMCH 119	5	5	300-400
LMCH 122	7	7	100-450
LMCH 128	6	6	300-420
TB	5,4	5,4	100 -550
Tổng số	54	54	

Như vậy, tính đa hình cao nhất thể hiện ở locus LMCH 33 và LMCH 122 với 7 allele/locus và thấp nhất thể hiện ở locus LMCH 43 với 4 allele/locus. Kích thước các băng thu được dao động

trong khoảng 100-550bp. Dựa vào sự khác biệt giữa các băng cho phép xác định được sự khác nhau giữa các giống về mặt di truyền.

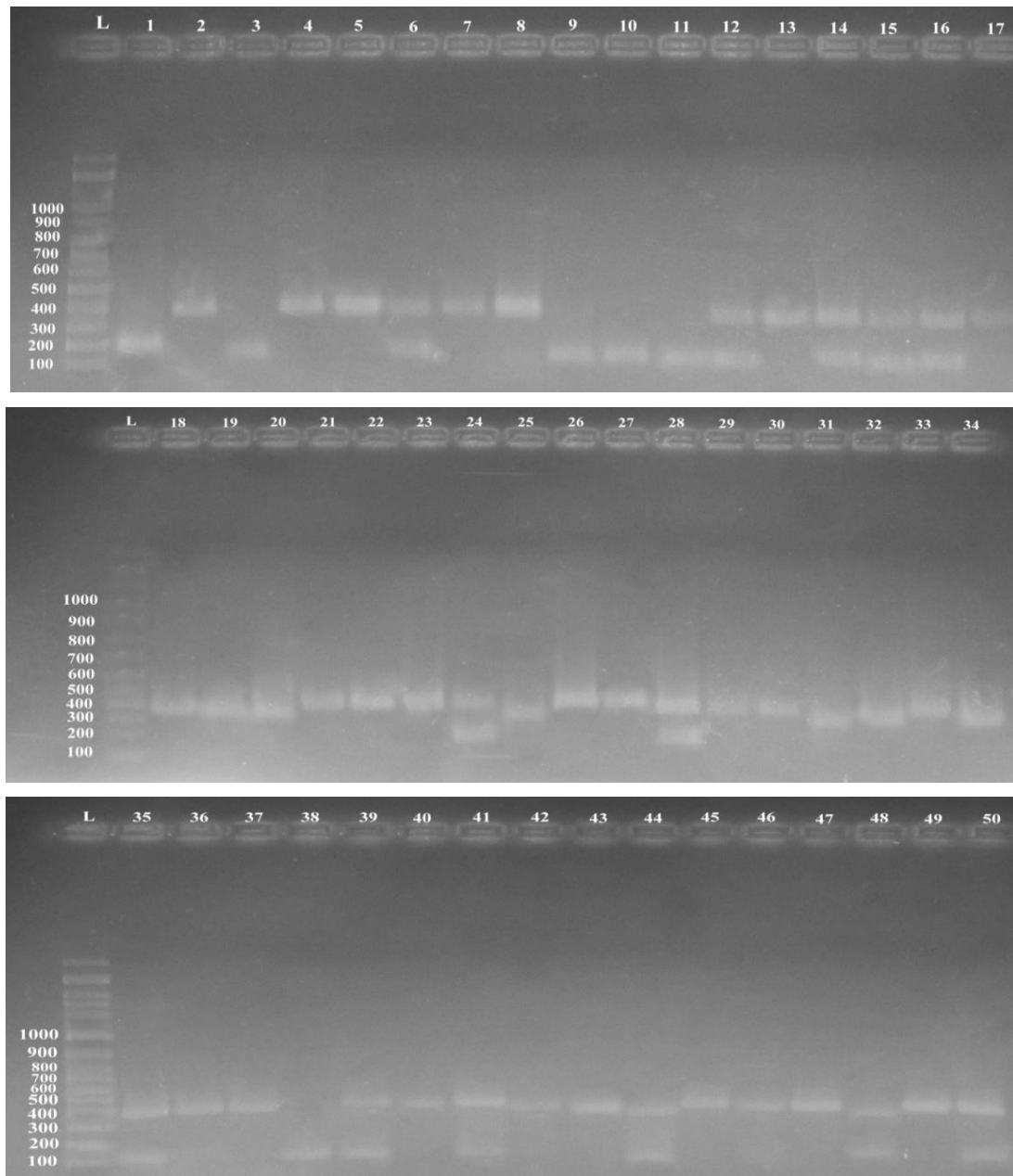


**Ghi chú:** L: Ladder – thang chuẩn 100bp  
 100, 200, 300, ..., 900, 1000: kích thước băng DNA  
 1, 2, 3, ..., 49, 50: thứ tự các mẫu măng cầu dai

**Hình 2:** Kết quả PCR-SSR của môi LMCH 33 với 50 mẫu DNA từ 10 quần thể măng cầu dai

Hình 2 cho thấy với môi LMCH 33 sản phẩm SSR tạo ra các băng đa hình, sáng, rõ, không bị gãy, kích thước băng từ 300-550bp. Trong đó có một số mẫu tạo ra với 2 băng: mẫu 26, 29, 32, 35, 36, 41 do đó có thể dễ dàng phân biệt các mẫu này với các mẫu còn lại. Bên

cạnh đó, băng đa hình 550bp chỉ xuất hiện ở các mẫu 32, 35, 36, 41 và băng đa hình 500bp chỉ xuất hiện ở các mẫu 26, 29, 46. Kết quả này cho thấy sự khác biệt di truyền giữa các giống măng cầu dai được phân tích.



**Hình 3:** Kết quả PCR-SSR của môi LMCH 122 với 50 mẫu DNA từ 10 quần thể mãng cầu dai

Theo hình 3, băng có kích thước nhỏ nhất 100bp chỉ xuất hiện duy nhất ở môi LMCH 122 với mẫu thứ 35, 38, 39, 41, 44, 48, 50; và băng có kích thước 200bp xuất hiện ở mẫu thứ 1, 3, 6, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 28. Do đó có thể tiếp tục nghiên cứu môi này như chỉ thị phân tử đặc trưng cho các mẫu trên để

phân biệt với những mẫu còn lại. Có thể 2 băng đa hình này là chỉ thị đặc trưng cho các giống mãng cầu dai.

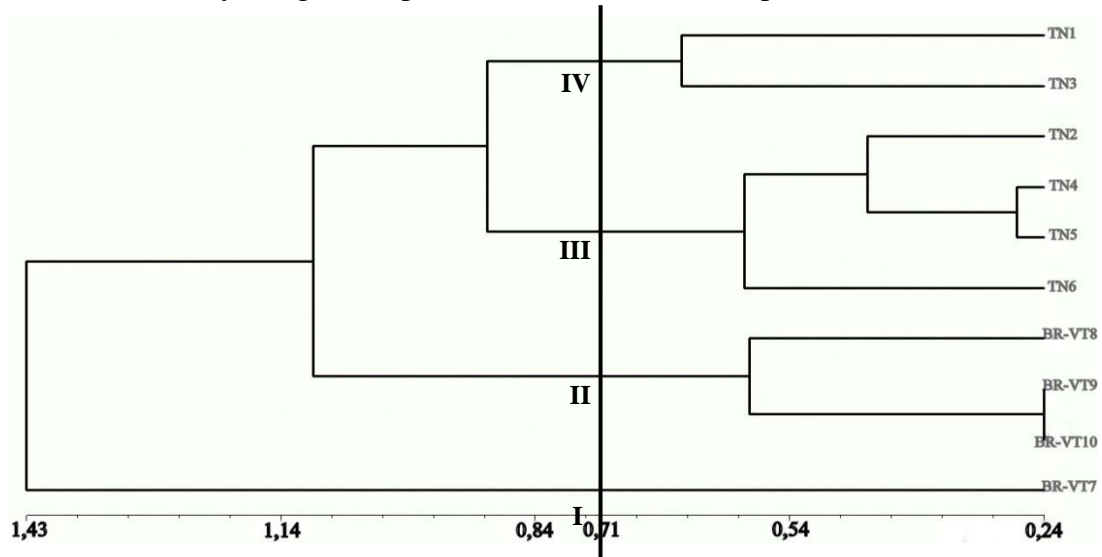
### 3.3. Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền bằng phần mềm NTSYSpc 2.1

Kết quả điện di sản phẩm SSR được mã hóa dạng nhị phân theo nguyên tắc có băng ghi 1, không có băng ghi 0 sẽ



được dùng để tạo ra ma trận khoảng cách của 10 quần thể măng cầu dai. Số liệu thu được xây dựng sơ đồ phả hệ và

sơ đồ phân nhóm biểu diễn mối quan hệ về di truyền giữa chúng thông qua phần mềm NTSYSpc 2.1.



**Hình 4:** Cây phân nhóm đa dạng di truyền bằng phần mềm NTSYSpc 2.1

Cây phân nhóm đa dạng di truyền cho thấy khoảng cách đa dạng di truyền biến thiên từ 0,24 – 1,43; trung bình 0,71. Kết quả này gần giống với kết quả nghiên cứu của Kingdom và cs (2007) khi sử dụng 3 môi SSR để đánh giá sự đa dạng di truyền của 9 quần thể *Annona senegalensis* Pers. được thu thập từ những vùng khác nhau của miền Nam châu Phi [6]. Ở giá trị trung bình 0,71 các giống măng cầu dai chia làm 4 nhóm chính. Nhóm I chỉ gồm 1 quần thể duy nhất là BR-VT7. Nhóm II bao gồm 2 nhóm phụ: trong đó, quần thể BR-VT8 đứng riêng 1 nhóm, nhóm còn lại gồm 2 quần thể không được tách riêng là BR-VT9 và BR-VT10. Có khả năng 2 quần thể này giống nhau một cách ngẫu nhiên, được dự đoán dựa trên tần suất xuất hiện những allele được phát hiện ở 2 quần thể này đối với mỗi locus. Điều đó phù hợp với vị trí địa lý

của 2 quần thể khi lấy mẫu để nghiên cứu tương đối gần nhau. Nhóm III cũng bao gồm 2 nhóm phụ, trong đó quần thể TN6 đứng riêng 1 nhóm, nhóm phụ thứ 2 gồm quần thể TN2, TN4 và TN5. Nhóm IV gồm 2 quần thể TN1 và TN3, 2 quần thể này đã có sự gần gũi nhau về mặt di truyền, có họ hàng gần nhau.

#### 3.4. Kết quả phân tích đa dạng di truyền bằng phần mềm Popgene 1.32

Mức độ đa dạng di truyền của các giống măng cầu dai được đánh giá dựa vào các chỉ số đa dạng di truyền thông qua phân tích bằng phần mềm Popgene 1.32. Kết quả ở bảng 5 cho thấy khoảng cách di truyền dao động từ 0,24 đến 1,43. Hai quần thể BR-VT7 và TN1 có khoảng cách di truyền xa nhất (1,43). Khoảng cách di truyền thấp nhất tương ứng giữa hai quần thể TN3 và TN2 với giá trị khoảng cách di truyền là 0,24.

**Bảng 5:** Khoảng cách đa dạng di truyền giữa các quần thể mãng cầu dai

Tên QT	TN1	TN2	TN3	TN4	TN5	TN6	BR-VT7	BR-VT8	BR-VT9	BR-VT10
TN1	****									
TN2	0,33	****								
TN3	0,48	<b>0,24</b>	****							
TN4	0,47	0,49	0,47	****						
TN5	0,80	0,71	0,70	0,39	****					
TN6	1,13	0,72	0,82	0,36	0,37	****				
BR-VT7	<b>1,43</b>	1,34	1,07	0,69	0,74	0,50	****			
BR-VT8	1,26	1,00	0,86	0,78	0,77	0,82	0,46	****		
BR-VT9	0,81	0,86	1,28	0,74	0,66	0,58	0,68	0,33	****	
BR-VT10	0,82	1,01	1,42	0,89	0,96	1,17	1,33	0,82	0,31	****
TB	0,84	0,80	0,95	0,64	0,70	0,77	0,82	0,58	0,31	<b>0,71</b>

**Bảng 6:** Trung bình đa dạng theo chỉ số Shannon Index, số băng đa hình, tỷ lệ băng đa hình của 10 quần thể mãng cầu dai

STT	Quần thể	Số băng đa hình	Tỷ lệ băng đa hình (%)	I	SD
1	TN1	9	90	0,78	0,32
2	TN2	9	90	0,74	0,20
3	TN3	9	90	0,67	0,29
4	TN4	9	90	0,66	0,33
5	TN5	8	80	0,53	0,32
6	TN6	10	100	0,83	0,27
7	BR-VT7	<b>10</b>	<b>100</b>	<b>0,84</b>	0,23
8	BR-VT8	9	90	0,66	0,37
9	BR-VT9	9	90	0,82	0,38
10	BR-VT10	<b>7</b>	<b>70</b>	<b>0,45</b>	0,36
TB		8,9	89	0,70	0,31

*Ghi chú:* SD: Stev.D  
I: chỉ số Shannon Index

Dựa trên kết quả của bảng 6 ta thấy tỷ lệ băng DNA đa hình khá cao, trong

đó quần thể có tỷ lệ băng đa hình cao nhất là TN6, BR-VT7 với tỷ lệ băng đa

hình 100% và quần thể có tỷ lệ băng đa hình thấp nhất là BR-VT10 với tỷ lệ băng đa hình 70%. Như vậy trong quần thể TN6 và BR-VT7 đã có sự đa dạng cao giữa các cá thể trong cùng quần thể, chứng tỏ các cá thể trong mỗi quần thể trên đã trải qua quá trình lai tạo, tạo nên những biến đổi di truyền trong kiểu gen.

Bên cạnh đó, sự đa dạng di truyền của các cá thể trong quần thể BR-VT7

( $I = 0,84$ ) là cao nhất và thấp nhất ở quần thể BR-VT10 ( $I = 0,45$ ). Qua kết quả này cho thấy các cá thể trong quần thể BR-VT7 có sự biến động về mặt di truyền khá lớn và các cá thể trong quần thể BR-VT10 có biến động di truyền thấp và mức độ đa hình trong quần thể BR-VT10 không cao.

**Bảng 7:** Kết quả phân tích đa dạng di truyền bằng phần mềm Popgene 1.32

STT	Môi	$H_e$	PIC	Ave- $H_{et}$	Nm	Shannon Index (I)
1	LMCH33	0,763	0,766	0,364	0,233	1,600
2	LMCH34	0,758	0,750	0,416	0,311	1,488
3	LMCH43	<b>0,623</b>	<b>0,617</b>	0,424	0,421	<b>1,234</b>
4	LMCH69	0,683	0,676	0,472	<b>0,815</b>	1,249
5	LMCH93	0,669	0,662	0,440	0,495	1,262
6	LMCH102	0,774	0,755	<b>0,354</b>	<b>0,215</b>	1,526
7	LMCH108	0,742	0,734	0,448	0,326	1,589
8	LMCH119	0,667	0,660	0,504	0,808	1,282
9	LMCH122	<b>0,800</b>	<b>0,792</b>	<b>0,546</b>	0,725	<b>1,604</b>
10	LMCH128	0,732	0,725	0,448	0,405	1,444
TB		0,721	0,714	0,442	0,475	1,429

*Ghi chú:*  $H_e$ : Hệ số dị hợp tử mong đợi, PIC: Hệ số di truyền, Ave -  $H_{et}$ : Chỉ số dị hợp tử trung bình, Nm: Dòng chảy gen hay di nhập gen.

Qua bảng 7, chỉ số  $H_e$  nằm trong khoảng 0,62 (LMCH 43) đến 0,80 (LMCH 122) trung bình 0,72; giá trị này phù hợp với chỉ số PIC thu được 0,62 (LMCH 43) đến 0,79 (LMCH 122). Như vậy việc sử dụng môi LMCH 122 phân tích đa dạng di truyền cho kết quả tốt nhất. Môi LMCH 43 cho chỉ số đa hình thấp do đó giới hạn trong phân

tích đa dạng di truyền cho các giống măng cầu dai. Kết quả này cũng gần giống với kết quả nghiên cứu của Escribano và cs (2008): môi LMCH 122 cho số băng đa hình là 6 băng và chỉ số  $H_e$ : 0,76. Qua đó cho thấy môi LMCH 122 có thể được xem là chỉ thị phân tử đặc trưng trong phân tích đa dạng di truyền cây măng cầu dai. Bên cạnh đó,

chỉ số dị hợp tử trung bình ( $Ave-H_{et}$ ) của mỗi mẫu trên các giống măng cầu dai khá cao, dao động từ 0,35-0,55, trung bình khoảng 0,44. Chỉ số Nm dao động trong khoảng từ 0,22 (LMCH 102) đến 0,82 (LMCH 69), trung bình 0,48. Điều đó cho thấy 10 quần thể măng cầu dai có sự trao đổi vật liệu di truyền giữa các giống ở mức độ khá cao. Điều này phù hợp với thực trạng công tác giống mang tính tự phát tại Việt Nam nói chung và tại Tây Ninh và Bà Rịa – Vũng Tàu nói riêng.

Cũng theo bảng 7, chỉ số Shannon Index với mức trung bình khá cao (1,43), trong đó mỗi LMCH 122 cho chỉ số cao nhất (1,6) và thấp nhất thể hiện ở mỗi LMCH 43 (1,23). Qua đó cho thấy mỗi LMCH 43 có hệ số đa dạng thấp nhất vì vậy mỗi này có thể được dùng làm chỉ thị phân biệt những giống có quan hệ gần gũi. Mỗi LMCH 122 có sự đa hình cao nhất do đó có thể dùng trong nghiên cứu phân lập một đặc tính nào đó của măng cầu dai.

#### 4. Kết luận

10 mẫu SSR được dùng trong nghiên cứu đã phát hiện tính đa hình cao của các quần thể măng cầu dai. Mỗi LMCH 33 và LMCH 122 cho số băng khuếch đại đa hình cao nhất là 7 băng.

Ở mức độ khoảng cách đa dạng di truyền 0,71 các quần thể măng cầu dai chia làm bốn nhóm chính. Nhóm I chỉ duy nhất quần thể: BR-VT7; nhóm II gồm các quần thể: BR-VT8, BR-VT9, BR-VT10, nhóm III gồm các quần thể: TN6, TN2, TN4, TN5 và nhóm IV gồm 2 quần thể: TN1, TN3.

Hai quần thể măng cầu dai có khoảng cách di truyền xa nhất là BR-VT7 và TN1, gần nhất là TN3 và TN2. Đồng thời, quần thể có sự biến động về mặt di truyền cao nhất là BR-VT7 và quần thể BR-VT10 có biến động di truyền thấp nhất.

Mỗi LMCH 122 được xem là chỉ thị sinh học phân tử đặc trưng trong phân tích đa dạng di truyền cây măng cầu dai.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Công Hậu (2000), *Trồng cây ăn quả ở Việt Nam*, NXB Nông nghiệp, TP.Hồ Chí Minh
2. Nguyễn Văn Kế (1997), *Cây ăn quả nhiệt đới*, Trường Đại học Nông Lâm, TP. Hồ Chí Minh
3. Trần Thế Tục (2008), *Kỹ thuật trồng và chăm sóc Na-Thanh long*, NXB Nông nghiệp, Hà Nội
4. Edward (1991), *Variable number of tandem repeats*, McGraw Hill. New York, USA, pp. 375-387
5. Escribano, P., Viruel, M. A., & Hormaza, J. I. (2008), Development of 52 new polymorphic SSR markers from cherimoya (*Annona cherimola Mill.*): transferability to related taxa and selection of a reduced set for DNA fingerprinting and diversity studies, *Molecular ecology resource* 8, pp. 317-321

6. Kingdom Kwapata, Weston F. Mwase<sup>1</sup>, J. M. Bokosi, M. B. Kwapata and P. Munyenyembe (2007), *Genetic diversity of Annona senegalensis Pers. populations as revealed by simple sequence repeats*, African Journal of Biotechnology Vol. 6 (10), pp. 1239-1247

**RESEARCH ON GENETIC DIVERSITY OF CUSTARD APPLE  
(*Annona squamosa*) POPULATIONS IN TAY NINH AND BA RIA – VUNG TAU  
PROVINCES BASED ON MOLECULAR BIOLOGY INDICATOR**

**ABSTRACT**

*The aim of the study is to determine the genetic connection of custard apple populations (*Annona squamosa*) for using in agricultural production, contributing to the improvement of crop productivity. The results of genetic diversity analysis based on SSR markers from 10 custard apple populations collected in 2 provinces of Tay Ninh and Ba Ria - Vung Tau obtained high polymorphism, where primer LMCH 33 and LMCH 122 give the highest number of polymorphic amplifiers. Tree subgroup relationship phylogenetic showed that 10 custard apple populations were divided into four main groups: group I consisted of the population: BR-VT7; group II consisted of the populations: BR-VT8, BR-VT9, BR-VT10; group III consisted of the populations: TN6, TN2, TN4, TN5 and group IV consisted of the populations: TN1, TN3. Analysis on popgene 1.32 showed that Nei's genetic distance ranged from 0.24 to 1.43, corresponding to two populations of custard apple with the longest genetic distance is BR-VT7 and TN1, the nearest are TN3 and TN2. The analysis also shows that the LMCH 122 priming index has the highest PIC (0.79) and I (1.60), and is considered a specific molecular biology indicator in analysis of genetic diversity of custard apple tree.*

**Keywords:** Genetic diversity, custard apple, molecular biology indicator

(Received: 1/10/2019, Revised: 26/11/2019, Accepted for publication: 16/12/2019)